

Применение полиэтиленгликоля в технологии лиофилизации для приготовления раствора для инъекций на основе субстанции ГК-2

Е.В. Блынская¹, С.В. Тишков¹, К.В. Алексеев¹, С.В. Минаев¹, А.И. Марахова²

¹НИИ фармакологии им. В.В. Закусова;

Российская Федерация, 125315, Москва, Балтийская ул., д. 8;

²Российский университет дружбы народов;

Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Блынская Евгения Викторовна – кандидат фармацевтических наук, заведующая лабораторией готовых лекарственных форм ОТО ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова». Тел.: +7 (495) 601-24-16. E-mail: mrsaugreussnape@yandex.ru

Алексеев Константин Викторович – доктор фармацевтических наук, заместитель директора по инновационной работе ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова». Тел.: +7 (495) 601-21-56. E-mail: convieck@yandex.ru

Тишков Сергей Валерьевич – младший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова. Тел.: +7 (903) 672-69-57. E-mail: sergey-tishkov@ya.ru

Минаев Сергей Викторович – кандидат фармацевтических наук, заведующий опытно-технологическим отделом ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова». Тел.: +7 (916) 213-25-58. E-mail: 2minaev@gmail.com

Марахова Анна Игоревна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая лабораторией научно-образовательного центра «Нанотехнологии», Российского университета дружбы народов. Тел.: +7 (926) 600-65-95. E-mail: agentcat85@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. В отделе химии лекарственных средств НИИ фармакологии им. В.В. Закусова под руководством Т.А. Гудашевой сконструирован низкомолекулярный дипептидный миметик 4-й петли NGF-гексаметилендиамид бис-(N-моносукинил-L-глутамил-L-лизина), получивший рабочий шифр ГК-2. Соединение в опытах *in vitro* показало нейропротективную активность.

Цель исследования – изучение возможности использования ПЭГ в сочетании с крио- и лиопротекторами при получении лекарственного препарата (ЛП) в форме лиофилизата для инъекций на основе оригинальной фармацевтической субстанции ГК-2.

Материал и методы. Использовались: субстанция ГК-2, полученная в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова; вспомогательные вещества: лиопротектор – сахароза, криопротекторы – полиэтиленгликоли (ПЭГ) 1500, 4000, 6000. Замораживание проводили в 2 режимах – медленном и быстром. Для обработки результатов использовали математическую функцию желательности Харрингтона

Результаты. Обоснованы и применены среднемолекулярные полиэтиленгликоли в технологии лиофилизации в качестве криопротекторов, подобраны соотношения вспомогательных веществ (ВВ). Для каждого состава определена температура эвтектики и показатели качества полученных лиофилизатов (прозрачность, время растворения, уровень pH, остаточная влажность). Построены температурные кривые лиофилизации, наиболее удовлетворяющие требованиям составов, и выбран модельный состав с оптимальными технологическими режимами лиофилизации.

Заключение. В технологии лиофилизации пептидной субстанции ГК-2 необходимо использование лиопротекторов и криопротекторов. Дана оценка применения ПЭГ различной молекулярной массы в технологии лиофилизации. С помощью обобщенной функции желательности Харрингтона обоснован состав ЛП на основе субстанции ГК-2, обеспечивающий соответствие фармакопейным требованиям ГФ РФ XIII изд. [4].

Ключевые слова: лиофилизат для получения раствора для инъекций, ГК-2, нейропротекторное действие, функция обобщенной желательности Харрингтона, криопротектор, лиопротектор, среднемолекулярные полиэтиленгликоли.

Для цитирования: Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В., Минаев С.В., Марахова А.И. Применение полиэтиленгликоля в технологии лиофилизации для приготовления раствора для инъекций на основе субстанции ГК-2. Фармация, 2018; 67 (6): 24–29. <https://doi.org/10.29296/25419218-2018-06-05>

USE OF POLYETHYLENE GLYCOL IN FREEZE-DRYING TECHNOLOGY FOR PREPARATION OF A GC-2-BASED SOLUTION FOR INJECTION
E.V. Blynskaya¹, S.V. Tishkov¹, K.V. Alekseev¹, S.V. Minaev¹, A.I. Marakhova²

¹V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, 8, Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation;

²Peoples' Friendship University of Russia, 6, Miklukho-Maklaj St., Moscow 117198, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. The low-molecular-weight nerve growth factor (NGF) loop 4 dipeptide mimetic bis-(N-monosuccinyl-L-glutamyl-L-lysine) hexamethylene diamide that received a working GK-2 code was designed under the supervision of T.A. Gudasheva at the Department of Drug Chemistry, V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology. The compound showed neuroprotective activity in *in vitro* experiments.

Objective: to investigate the possibilities of using polyethylene glycol (PEG) in combination with cryo- and lyoprotectants to prepare a drug based on the original pharmaceutical substance GK-2 to be used as a lyophilisate for injection.

Material and methods. The substance GK-2 obtained at the V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology and excipients, such as the lyoprotectant sucrose and the cryoprotectants PEG 1500, 4000, and 6000, were applied. Two types of freezing (slow and fast) were performed. Harrington's mathematical desirability function was used for the statistical processing of the results.

Results. Medium-molecular-weight polyethylene glycols used as cryoprotectants in freeze-drying technology were substantiated and applied; the ratios of excipients were selected. The eutectic temperature and quality indicators (transparency, dissolution time, pH level, and residual moisture) of the obtained lyophilisates were determined for each composition. The freeze-drying temperature curves that met most the requirements for compositions were constructed; and the model structure with optimal technological freeze-drying modes was selected.

Conclusion. Lyoprotectants and cryoprotectants should be used in the freeze-drying of the peptide substance GK-2. The application of PEG of different molecular weights in freeze-drying technology was assessed. Harrington's generalized desirability function was used to substantiate the substance GK-2-based drug composition that is in compliance with the requirements of the Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th edition [4].

Key words: lyophilisate for preparation of solution for injection; GK-2, neuroprotective activity; Harrington's generalized desirability function; cryoprotectant; lyoprotectant; medium-molecular-weight polyethylene glycols.

For citation: Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseev K.V., Minaev S.V., Marakhova A.I. Use of polyethylene glycol in freeze-drying technology for preparation of a GK-2-based solution for injection. *Farmatsiya (Pharmacy)*, 2018; 67 (6): 24–29. <https://doi.org/10.29296/25419218-2018-06-05>

Введение

При разработке лекарственных препаратов (ЛП) пептидной природы исследователи сталкиваются с такими проблемами, как деструкция молекул фармацевтической субстанции (ФС) при хранении в водных растворах, недостаточная растворимость ФС, агрегация молекул и потеря активности ферментов. К стрессорным факторам также относятся: нагревание, замораживание, изменение pH среды, влияние поверхностно-активных веществ или денатурирующих агентов. Доказано, что даже в условиях, обеспечивающих термодинамическую стабильность нативной структуры пептида и белка, явление агрегации в водных растворах может возникать во время хранения, а процесс дегградации белковой молекулы в водном растворе происходит достаточно быстро – в течение 18–24 ч хранения [1, 2].

Для предотвращения этих нежелательных реакций рациональным представляется использование лекарственной формы (ЛФ) в виде лиофилизатов для парентерального применения. Лيوфилизат, в том числе «лиофилизированный порошок», для приготовления инъекционных или инфузионных лекарственных форм – это твердая дозированная ЛФ, полученная методом лиофилизации, предназначенная для приготовления раствора или суспензии для парентерального применения.

Кроме того, данная ЛФ позволяет увеличить растворимость ФС в водных растворах, а также

обеспечить надежность при хранении и транспортировке лекарственных средств (ЛС). Она устойчива к микробной контаминации. Однако лиофилизация имеет много нюансов. Во время этого процесса часто возникают проблемы на этапе разработки и производства ЛФ. Чтобы избежать их необходимо правильно подобрать вспомогательные вещества (ВВ) и режим сушки для них.

Процесс лиофилизации используется в производстве лекарственных препаратов (ЛП) относительно недавно. Поэтому требуется более детальное изучение ВВ, преимущественно полимерной природы (полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон и т.д.), которые могут применяться в технологии лиофилизации. Целесообразно рассмотреть возможности средне- и высокомолекулярного полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молярной массой от 1500 до 6000 г/моль, который обладает уникальным набором свойств, что делает его незаменимым при лиофилизации. Во-первых, данные полимеры обладают высокой температурой эвтектики (от -17 до -28°C), что позволяет проводить первичную сушку растворов при более высоких температурах. Во-вторых, ПЭГ характеризуются высокой стабилизирующей способностью ФС и других ВВ за счет образования водородных связей с пептидами [3]. В-третьих, средне- и высокомолекулярный ПЭГ повышает растворимость трудно растворимых ФС из-за солубилизирующей способности.

Пристальное внимание следует обратить на такие вопросы, как изменение структуры вещества и растворителей, механизмы криопротекции и лиопротекции, а также процессы, протекающие на различных этапах лиофилизации. Все это поможет предотвратить возможную потерю терапевтической эффективности ФС в связи с нарушениями его строения и позволит сохранить и даже усилить фармакологические свойства препарата.

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова сконструирован низкомолекулярный дипептидный миметик 4-й петли NGF-гексаметилендиамид бис-(N-моносукинил-L-глутамил-L-лизина), получивший рабочий шифр ГК-2. В опытах *in vitro* было изучено нейропротекторное и дифференцировочное влияние ГК-2 на основные эффекты, вызываемые нативным NGF. Установлено, что ФС ГК-2 проявляет нейропротективную активность.

Цель исследования – изучение возможности использования ПЭГ в сочетании с крио- и лиопротекторами при получении ЛП в форме лиофилизата для инъекций, соответствующего всем фармакопейным требованиям [4]. В ходе исследования применялись методы математического обобщения.

Материал и методы

В исследовании использовались: субстанция ГК-2, полученная в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова; вспомогательные вещества: лиопротектор сахара (CompriSugar) (Франция), криопротекторы – полиэтиленгликоль 1500, 4000, 6000 (ПЭГ, макрогол) (Polyglykol® 1500, USP, Polyglykol® 4000, 6000 (Испания).

Эксперименты проводились на следующем оборудовании: лиофильная сушилка Edwards EF-6, влагомер Sartorius MA-35, рН-метр, измеритель уровня кислотности (рН) раствора Sartorius Basic Meter PB-11, дифференциальный сканирующий калориметр STA 449 F1 Jupiter®.

Определение потери в массе при высушивании и рН проводили по методикам ГФ РФ XIII изд., том 1 (ОФС 1.2.1.0010.15; ОФС 1.2.1.0004.15) [4]. Время растворения устанавливали в соответствии с методикой проекта ОФС «Ллиофилизаты».

Для обработки результатов использовали математическую функцию желательности Харрингтона, позволяющую выбрать наиболее оптимальный состав, опираясь на обобщенный показатель желательности (D), стремящийся к единице [5].

Замораживание выполняли в 2 режимах (медленное замораживание и быстрое замораживание). При медленном замораживании препарат загружали на полку лиофильной сушилки при температуре +24°C и охлаждали полку до -25°C за 1 ч при скорости 0,84°C/мин. Далее полку охлаждали от -25 до -35±2°C за 1 ч при скорости 0,167°C/мин, затем температуру полок понижали от -35 до -43±2°C за 1 ч и выдерживали 2 ч. Общее время заморозки составляло 5 ч. При быстром замораживании препарат загружали на полку лиофильной сушилки при температуре +24±2°C, охлаждали полку за 0,5 ч до -5±2°C, за 1 ч – до -20±2°C, за 2 ч – до -45±2°C и выдерживали при данной температуре 2 ч. Общее время заморозки составляло 4 ч, скорость заморозки – 0,575°C/мин.

Ллиофилизацию осуществляли в следующих условиях: флаконы с модельными составами ГК-2, а также крио- и лиопротекторами в различных соотношениях, растворенными в воде для инъекций, устанавливали на полку камеры сублимационной установки Edwards. Затем герметично закрывали камеру суши и включали охлаждение полки до -45±2°C. Охлаждение происходило при разных режимах замораживания до достижения указанной температуры. Процесс заморозки до -45°C занимал ~4–6 ч в зависимости от режима. За 30 мин до начала сублимации начинали охлаждение конденсатора. После его охлаждения до -60°C включали вакуумный насос. Выключали охлаждение полок и включали нагрев полок до температуры от -18 до -37°C, в зависимости от состава модельной смеси. Вакуум в пределах 0,08 мбар достигался в течение 15 мин. Процесс первичной сублимации длится ~20 ч. Затем поднимали температуру до +8°C и сушили флаконы при указанной температуре. Процесс вторичной досушки длится 21 ч. По истечении указанного времени выключали нагрев полок, вакуум и конденсатор, выравнивали давление в камере и вынимали флаконы с продуктом. Об окончании процесса сушки судили по изменению давления в камере.

Вакуум создавали по завершении этапа замораживания и начинался процесс первичной сублимации – давление в камере падает до 0,01 мбар. В течение первичной сушки (20 ч) давление в камере равно 6,8–8,0 • 10⁻² мбар. На этапе вторичной досушки (21 ч) давление составляет примерно 5,9–6,0 • 10⁻² мбар. Окончание сублимации определяли с помощью измерения давления в камере при закрытии переходного клапана.

Результаты и обсуждение

В технологическом процессе лиофилизации самое важное – это температурные режимы заморозки и сублимации. Для защиты веществ от внешних воздействий в процессе сублимационной сушки используются криопротекторы и лиопротекторы. Криопротекторы – ВВ – защищают продукт преимущественно во время замораживания в основном за счет вытеснения воды с поверхности пептида. Криопротекторы обычно имеют кристаллическую структуру, но в зависимости от условий могут изменять ее [6]. Оптимальным криопротектором является ПЭГ. Как известно, ПЭГ имеет кристаллические свойства, но в зависимости от условий заморозки и от взаимодействия с другими ВВ, например сахарозой, его структура будет либо кристаллическая, либо более аморфная. Это в свою очередь влияет на стабильность продукта.

Леопротекторы стабилизируют белковые и пептидные ЛС путем взаимодействия с их молекулярной структурой в процессе сушки и образования защитного слоя на поверхности, выполняя роль «заменителя воды» при удалении гидратной оболочки белка (преимущественно во время вторичной сушки), оберегая таким образом от потери конформационной стабильности и в дальнейшем от деградации молекулы [7]. Функцию леопротекции выполняют главным образом дисахариды, за счет возможности в аморфном состоянии образовывать водородные связи с функциональными группами пептида. Поэтому особенно важно подобрать наиболее подходящие крио- и леопротекторы. Из леопротекторов оптимальной является сахароза или другие дисахариды.

Для выбора оптимальных условий технологического процесса исследовались медленный и быстрый режимы заморозки испытуемых составов. Режимы рассматривались для всех составов, чтобы выбрать наиболее устойчивый к различным условиям заморозки. Выбор этих условий необходим для того, чтобы модельные составы не испытывали проблем во время масштабирования и трансфера технологий.

При медленном замораживании образуются крупные кристаллы льда, в результате чего в процессе сушки интенсивное испарение влаги из объема продукта происходит через большие поры, оставшиеся после испарения кристаллов льда. Но при этом разрушается структура вещества, вследствие ее деформации льдом.

Во время быстрого замораживания образуются мелкие кристаллы льда, а после испарения

кристаллов – поры небольших размеров, и массоперенос из объема вещества протекает менее интенсивно, несмотря на большую площадь поверхности испарения. Из-за резкого падения температуры ПЭГ сохраняет более аморфное состояние, чем при медленном замораживании. Для стабилизации продукта важно, чтобы криопротектор был в частично кристаллическом состоянии. При этом происходит стеклование – образуется защитная оболочка вокруг пептида, защищающая его на дальнейших этапах лиофилизации. Таким образом, как медленное, так и быстрое замораживание имеет и преимущества, и недостатки. Поэтому модельные составы проверялись при разных скоростях заморозки, чтобы соответствовать при масштабировании различным типам оборудования. Для предупреждения «коллапса» первичную сушку проводили при температуре на 2° ниже эвтектической температуры модельной смеси с использованием ДСК.

Так как чистый ГК-2 оказался непригодным для исследуемого препарата, пришлось рассмотреть комплексное применение криопротектора и леопротектора, самыми оптимальными из которых являются среднемолекулярные ПЭГ и сахароза.

Разработаны составы, охватывающие различные соотношения и количества компонентов. Для дальнейшего подбора крио- и леопротектора выбраны 12 составов, прошедшие испытание на прозрачность при обоих режимах сублимации, т.е. не утратившие стабильность в процессе лиофильной сушки. Составы, соотношения действующих и вспомогательных веществ, температуры эвтектики представлены в табл. 1.

В ходе исследований выявлены оптимальные соотношения: леопротектор:криопротектор, а именно, 20:80, 70:30, 80:20 и 90:10. При данных соотношениях компонентов сохраняется аморфная структура ВВ, что способствует стеклованию состава и образованию защитной оболочки вокруг пептида, предотвращающей его разрушение. Добавление ПЭГ как частично кристаллизующегося криопротектора также поддерживает макроскопическую структуру лиофилизата и дополнительно защищает продукт от внешних воздействий при сублимационной сушке. К тому же взаимодействие с гидрофильными группами ВВ приводило к дополнительной термодинамической стабилизации во время вторичной сушки. Это главная функция леопротектора, но при использовании полиэтиленгликолей они частично выполняют и эту функцию [8]. В данных составах

обеспечивалось сохранение прозрачности растворов при восстановлении готового препарата. Для указанных соотношений рекомендован быстрый режим заморозки, также обеспечивающий сохранение аморфного состояния ВВ.

Для определения оптимального состава лиофилизата была применена обобщенная функция желательности Харрингтона. Для получения значения желательности изучались следующие

параметры: время растворения (в с), значения рН после лиофилизации, остаточная влажность (в %). Чтобы определить значения обобщенной желательности сначала рассчитывали частную желательность d по каждому параметру. Обобщенная функция желательности Харрингтона представляет собой среднее геометрическое частных желательностей. Частная и соответственно обобщенная желательности, равные нулю, – абсолютно неудовлетворительны, а желательности, равные единице, наиболее приемлемы.

Проанализировав полученные значения d и D (табл. 2) можно сказать, что абсолютно неудовлетворительных модельных составов нет ($D > 0 > 0,2$). Составы 3, 4, 5 имеют близкие значения обобщенной желательности D (0,606, 0,624, 0,798). Данные значения находятся в промежутке 0,80–0,60 и соответствуют хорошему значению желательности, однако эти составы различаются по температурным режимам сушки и, соответственно, по длительности лиофилизации (рис. 1, 2).

Установленные различия обусловлены эвтектическими температурами, которые были из-

Таблица 1

Составы с сахарозой и ПЭГ

Номер серии	ГК-2, г	Сахароза, г	ПЭГ-1500, г	ПЭГ-4000, г	ПЭГ-6000, г	Тэ, °С
1	0,001	0,020	0,080	–	–	-29
2	0,001	0,090	0,010	–	–	-32
3	0,001	0,080	0,020	–	–	-31,2
4	0,001	0,070	0,030	–	–	-30,8
5	0,001	0,020	–	0,080	–	-24
6	0,001	0,090	–	0,010	–	-31
7	0,001	0,080	–	0,020	–	-30
8	0,001	0,070	–	0,030	–	-29
9	0,001	0,020	–	–	0,080	-21
10	0,001	0,090	–	–	0,010	-30,5
11	0,001	0,080	–	–	0,020	-29
12	0,001	0,070	–	–	0,030	-28

Таблица 2

Значения параметров, частных и обобщенной желательности Харрингтона

Серия	Время растворения, с	Значение рН после лиофилизации	Остаточная влажность, %	d_1	d_2	d_3	D
1	36,47	4,63	3,87	0,510	0,801	0,491	0,585
2	35,81	4,35	3,86	0,522	0,371	0,493	0,457
3	19,51	4,38	2,76	0,758	0,430	0,682	0,606
4	21,22	4,41	2,83	0,739	0,487	0,672	0,624
5	15,26	4,62	1,8	0,802	0,792	0,800	0,798
6	43,83	4,37	3,57	0,371	0,410	0,548	0,437
7	30,92	4,37	4,48	0,604	0,410	0,367	0,451
8	34,5	4,41	3,89	0,545	0,488	0,487	0,506
9	41,51	4,54	2,48	0,416	0,699	0,721	0,594
10	38,36	4,36	3,38	0,476	0,391	0,583	0,476
11	30,41	4,4	4,07	0,613	0,469	0,452	0,506
12	35,82	4,39	2,95	0,522	0,449	0,654	0,535

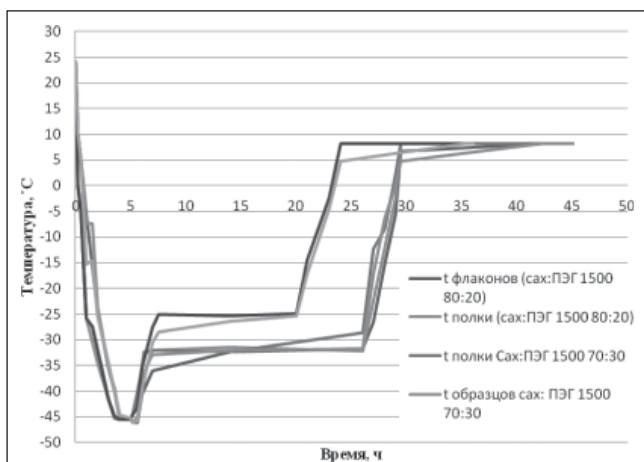


Рис. 1. Изменение температуры полок и раствора ГК-2 в течение лиофильной сушки при использовании медленного режима заморозки

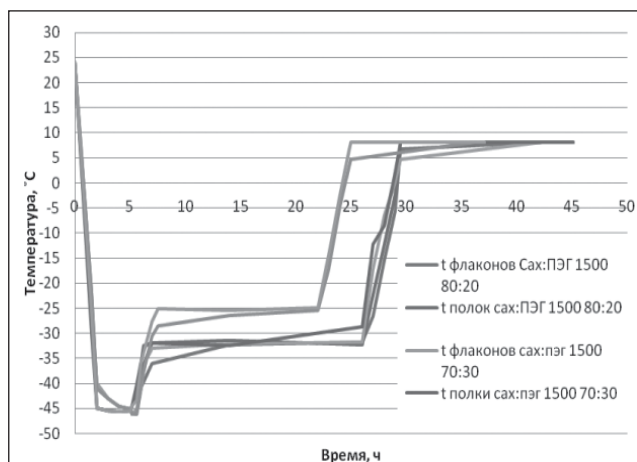


Рис. 2. Изменение температуры полок и раствора ГК-2 в течение лиофильной сушки при использовании быстрого режима заморозки

меры на ДСК и составляли соответственно для составов 18, 21, 33: $t = -31,2^{\circ}\text{C}$; $t = -30,8^{\circ}\text{C}$; $t = -24^{\circ}\text{C}$.

Таким образом, самый приемлемый модельный состав 33, так как он обладает наибольшей желательностью по Харрингтону, причем более экономичный и технологически быстрый. Представленный лиофилизат имеет следующий состав: ГК-2 – 0,001 г, сахароза – 0,020 г, ПЭГ – 4000–0,080 г.

Заключение

На базе НИИ фармакологии им. В.В. Закусова проводилось исследование по разработке состава и технологии лиофилизата для инъекционного введения нейропротекторного действия ГК-2 с применением методов математического обобщения.

Согласно результатам исследования, в технологии лиофилизации пептидной субстанции ГК-2 необходимо использование лиопротекторов и криопротекторов в определенных соотношениях. Оценили применение ПЭГ различной молекулярной массы в технологии лиофилизации. Провели технологические исследования модельных составов лиофилизатов с помощью обобщенной функции желательности Харрингтона, что позволило обосновать состав препарата на основе субстанции ГК-2, обеспечивающей соответствие всем необходимым требованиям ГФ РФ XIII изд.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В. Технологические подходы к совершенствованию процесса лиофилизации белковых и пептидных лекарственных препаратов. Российский биотерапевтический журнал, 2017; 1: 6–11. [Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseev K.V. Technological approaches to improving the process of lyophilization of protein and peptide drugs. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal, 2017; 1: 6–11 (in Russian)].
2. Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В., Марахова А.И. Вспомогательные вещества в технологии лиофилизации пептидов и белков. Фармация, 2017; 66 (1): 14–8. [Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseev K.V., Marakhova A.I. Auxiliary substances in the technology of lyophilization of peptides and proteins. Farmatsiya, 2017; 66 (1): 14–8 (in Russian)].
3. Wang W. Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. International journal of pharmaceuticals, 2000; 203 (1–2): 1–60.
4. Государственная фармакопея РФ XIII изд. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml> [The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIII-ed. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian)]
5. Сосюкин А.Е., Верведа А.Б. Практические аспекты использования функции желательности при проведении психофизиологического обследования персонала аварийно-спасательных формирований. Профилактическая медицина, 2015; 16: 872–84. [Sosyukin A.E., Verveda A.B. Practical aspects of using the desirability function in the psychophysiological examination of personnel of rescue units. Profilakticheskaya meditsina, 2015; 16: 872–84 (in Russian)].
6. Tang X.C., Pikal M.J. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice. Pharmaceutical research, 2004; 21 (2): 191–200.
7. Rast M. et al. Lyophilized formulation comprising gm-csf neutralizing compound. Patent 14/428,489 USA, 2013.
8. Arakawa T., Timasheff S.N. Mechanism of polyethylene glycol interaction with proteins. Biochemistry, 1985; 24 (24): 6756–62.

Поступила 28 февраля 2018 г.